

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

**This Page Blank (uspto)**

Query/Command : prt fu

-----  
1 / 1 WPAT - ©Thomson Derwent

AN - 1976-32220X [18]

TI - Thyrotropin releasing hormone-analogue dipeptide derivs - contg the histidyl-prolinamide residue acylated with an N-heterocyclic carboxylic acid

DC - B03

PA - (CHEF ) CHEM GRUENENTHAL GMBH

(CHEF ) GRUENENTHAL GMBH

NP - 6

NC - 3

PN - DE2449167 A 19760422 DW1976-18 \*

ZA7505956 A 19760721 DW1976-37

AT7506044 A 19780715 DW1978-31

AT7707218 A 19790615 DW1979-26

AT7803009 A 19800515 DW1980-23

DE2449167 C 19840524 DW1984-22

PR - 1974DE-2449167 19741016; 1975DE-2527723 19750621

IC - A61K-037/02 C07C-103/52

AB - DE2449167 A

Dipeptide derivs. of formula (I) (where R1 and R2 are H or 1-3C alkyl or R1+R2 is an additional C-C bond; R3 is H or 1-3C alkyl; and Z is NH or a gp. -NH-CO-, -CR4R5-S- or -CR4R5-O- in which R4 and R5 are H or 1-3C alkyl) e.g. crotyl-histidyl prolinamide, and their salts with pharmaceutically utilisable acids are new cpds. (I) have biological activity qualitatively and quantitatively similar to that of thyrotropin releasing hormone (TRH) but with longer duration of action and rapid onset after oral or parenteral administration (e.g. ca 10 mins. after parental administration). The chief pharmacological effect is an amphetamine-like central stimulant action. Toxicity is very low. (I) can thus be used as psychostimulants or antidepressants.

MC - CPI: B07-D03 B07-D09 B12-C06 B12-C10 B12-G04

UP - 1976-18

UE - 1976-37; 1978-31; 1979-26; 1980-23; 1984-22

**This Page Blank (uspto)**

51

Int. Cl. 2:

C07 C 103/52

A 61 K 37/02

19 BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

DEUTSCHES



PATENTAMT

DT 24 49 167 A1

11

# Offenlegungsschrift 24 49 167

21

Aktenzeichen: P 24 49 167.6

22

Anmeldetag: 16. 10. 74

43

Offenlegungstag: 22. 4. 76

30

Unionspriorität:

32 33 31

54

Bezeichnung: Dipeptidderivate

71

Anmelder: Chemie Grünenthal GmbH, 5190 Stolberg

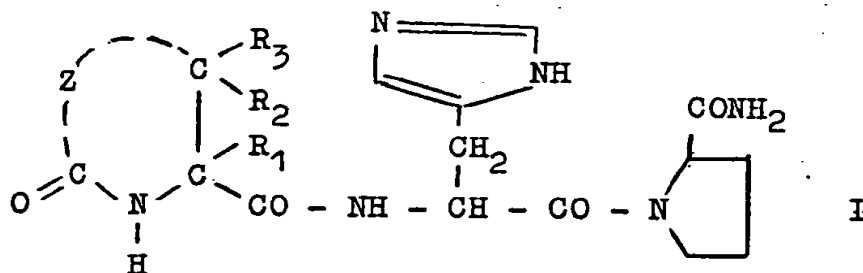
72

Erfinder: Schwertner, Eberhard, Dipl.-Chem. Dr., 5100 Aachen;  
Herrling, Siegfried, Dipl.-Chem. Dr.rer.nat., 5190 Stolberg

DT 24 49 167 A1

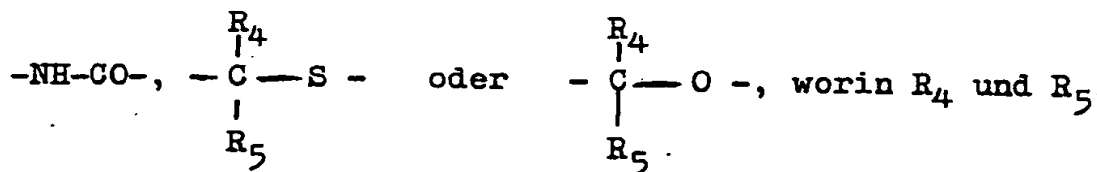
## (PS 8) Dipeptidderivate.

Die erfindungsgemäßen Dipeptidderivate leiten sich vom Histiäcyloprolin ab, wobei in diesem Dipeptid eine oder beide Aminosäuren optisch aktiv oder racemisch sein können, vorzugsweise jedoch in der L-Konfiguration vorliegen. Die Erfindung bezieht sich auf Dipeptidderivate der allgemeinen Formel I



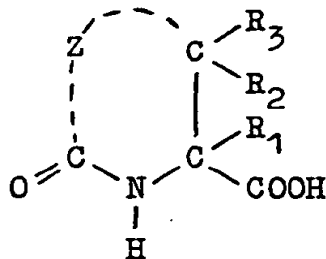
und Salze dieser Verbindungen mit pharmazeutisch anwendbaren Säuren.

Darin können  $R_1$  und  $R_2$  gleich oder verschieden sein und für Wasserstoffatome, Alkylreste mit bis zu 3 Kohlenstoffatomen oder zusammengekommen für eine zusätzliche Bindung zwischen den beiden diese Reste tragenden Kohlenstoffatomen stehen.  $R_3$  bedeutet ein Wasserstoffatom oder einen Alkylrest mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen. Z bedeutet ein zur Bildung eines 5- oder 6-gliedrigen Ringes geeignetes Brückenglied, nämlich eine NH-Gruppe oder eine Gruppe der Formeln



gleich oder verschieden sind und Wasserstoff oder Alkylreste mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen bedeuten.

Vorzugsweis handelt es sich b i d n mit dem Dipeptid verknüpften Carbonsäuren der Formel II



II

um die Orotsäure, die Imidazolidin-(2)-on-(4)-carbonsäure sowie um die Thiomorpholin-(5)-on-(3)-carbonsäure.

Weitere geeignete Säuren der allgemeinen Formel II sind z.B. die Morpholin-(5)-on-(3)-carbonsäure, die Thiomorpholin-(5)-on-(2,2)-dimethyl-(3)-carbonsäure, das 4-Carboxy-imidazol-2-or die Thiomorpholin-(6)-methyl-(5)-on-(3)-carbonsäure, die 5-Methyl-, 5-Äthyl- oder 5-Propyl-orotsäure und weitere entsprechende Verbindungen.

Wenn  $R_1$  und  $R_2$  zusammen keine Bindung zwischen den diese Reste tragenden Kohlenstoffatomen darstellen und/oder wenn  $R_4$  und  $R_5$  voneinander verschieden sind, können auch die Reste der Säuren der Formel II in razemischer oder optisch aktiver Form, vorzugsweise in der L-Form, in den Verbindungen der Formel I vorliegen.

Aufgrund der Basizität des Histidin-Restes sind die Verbindungen der Formel I befähigt, mit Säuren Salze zu bilden. Zum Gegenstand der Erfindung gehören daher auch Salze dieser Verbindungen mit pharmazeutisch (in Salzform) anwendbaren anorganischen oder organischen Säuren wie z. B. Salzsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Benzoesäure, Sali-

cylsäure, Phenyllessigsäure, Benzolsulfosäure usw.

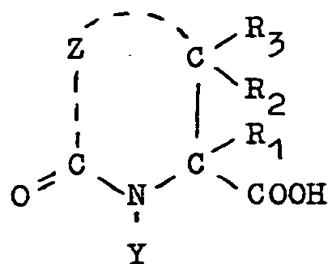
Die erfindungsgemäßen Verbindungen zeigen überraschenderweise biologische Eigenschaften, die denen des Pyroglutamylhistidylprolinamid, das gewöhnlich als "Tyrotropin-Releasing-Hormone" oder "TRH" bezeichnet wird, hinsichtlich Wirkungsqualität und Wirkungsstärke weitgehend gleichen, jedoch erheblich länger als diejenigen des bekannten Produktes anhalten. Die Verbindungen sind bei parenteraler und oraler Verabreichung wirksam, wobei der Wirkungseintritt rasch erfolgt, z. B. bei parenteraler Gabe nach etwa 10 Minuten. Die vorherrschenden Symptome entsprechen im pharmakologischen Test einer zentralen Erregung, die sich als amphetaminartig charakterisieren läßt. Die Toxizität der Verbindungen ist sehr gering, so daß die Verbindungen beispielsweise als Psychostimulantien bzw. als Antidepressiva eingesetzt werden können. Die Produkte können sowohl bei Menschen als auch bei Tieren Anwendung finden.

Geeignete pharmazeutisch anwendbare Zubereitungsformen sind Tabletten, Dragees, Granulate, Kapseln, Tropfen, Säfte bzw. Sirupe und Sprays zur intranasalen Applikation oder zur Verabreichung der Substanzen über die Bronchien.

Die Erfindung betrifft ferner die Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel I. Diese erfolgt zweckmäßig so, daß man das Histidylprolinamid mit der gewünschten optischen Konfiguration mit einer Säure der Formel II in Gegenwart eines wasserbindenden Mittels, insbesondere eines Carbodiimids (vorzugsweise Dicyclohexyl-carbodiimid) oder mit einem funktionellen Derivat einer Säure der Formel II, wie z. B. einem Säurehalogenid, einem Anhydrid oder gemischten Anhydrid, einem Azid oder einem aktivierten Ester umsetzt.



Statt der Säure der Formel II oder deren funktionellem Derivat kann auch eine Verbindung der Formel IIa



IIa

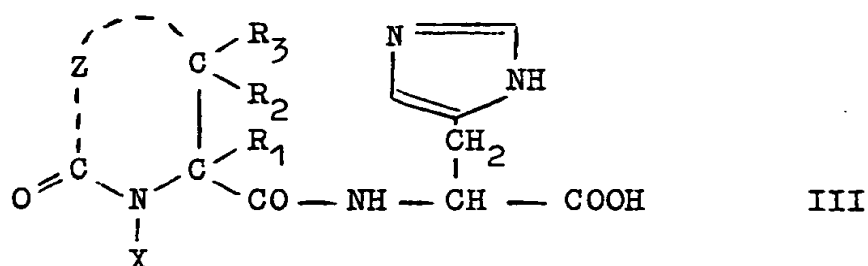
worin  $R_1$  bis  $R_3$  und  $Z$  die gleiche Bedeutung wie oben haben und  $Y$  eine hydrogenolytisch abspaltbare Gruppe, insbesondere eine Carbobenzoxy- oder eine substituierte Carbobenzoxygruppe darstellt

oder ein funktionelles Derivat dieser Säure, wie z. B. ein Säurehalogenid, ein Anhydrid oder gemischtes Anhydrid, ein Azid oder ein aktivierter Ester eingesetzt werden.

Bei der Umsetzung des Histidylprolinamids mit der Säure der Formel II bzw. IIa oder deren Derivat kann die 1-(3)-Stellung der Imidazolgruppe im Histidylrest gegen einen Angriff des Acylierungsmittels geschützt sein. Geeignete Schutzgruppen sind aus der Peptidchemie bekannt. Hierfür kommen insbesondere die Carbobenzoxygruppe oder substituierte Carbobenzoxygruppen, Tritylreste, o-Nitrophenoxyacetylreste, die tert.-Butyloxycarbonylgruppe und weitere an sich bekannte, nach erfolgter Umsetzung durch Hydrolyse oder Hydrogenolyse abtrennbare Reste in Betracht. Statt des Histidylprolinamids mit gegebenenfalls geschützter Imidazolgruppe kann man erfindungsgemäß auch ein daraus durch Umsetzung mit einem von einem Trialkylsilanol oder Dialkylsilandiol (mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen in jedem der Alkylreste) abgeleiteten Silylierungsmittel in an sich bekannter Weise erhaltenes silyliertes Histidylprolinamidderivat einsetzen. Nach beendeter Reaktion, die

in Gegenwart ein s nicht protonenaktiven Lösungsmittels erfolgt, lassen sich die Silylgruppen durch Hydrolyse oder Alkoholyse unter schonenden Bedingungen abspalten.

Zur Herstellung der Verbindungen der Formel I kann man auch so vorgehen, daß man eine Verbindung der Formel III

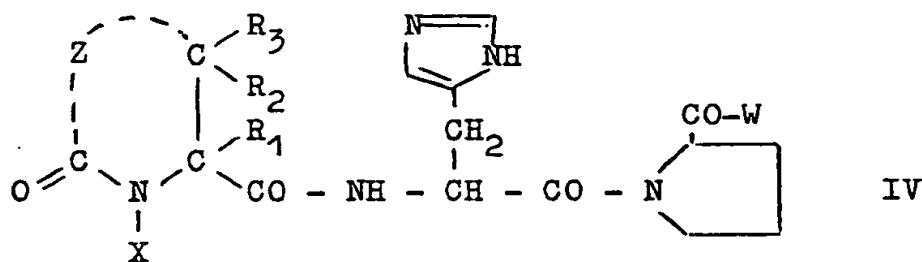


worin  $R_1$  bis  $R_3$  und Z die gleiche Bedeutung wie oben haben und X für ein Wasserstoffatom oder für die oben definierte Gruppe Y steht,

in der die 1-(3)-Stellung der Imidazolgruppe in der vorstehend erläuterten Weise reversibel geschützt sein kann, in Gegenwart eines wasserbindenden Mittels, insbesondere eines Carbodiimids, vorzugsweise Dicyclohexylcarbodiimid, oder ein funktionelles Derivat einer Verbindung der Formel III, wie z. B. ein Säurehalogenid, gemischtes Anhydrid, oder einen aktivierten Ester, mit Prolinamid umgesetzt und gegebenenfalls anschließend die Schutzgruppe von dem Imidazolylrest abtrennt.

Als aktivierte Ester der Säuren der Formeln II, IIa bzw. III kommen die aus der Peptidchemie bekannten aktivierten Ester, wie z. B. die vom p-Nitrophenol, Tri- oder Penta-chlorphenol, Pentafluorphenol, N-Hydroxysuccinimid, Hydroxypyridin, Thiophenol, p-Nitrothiophenol, Glycolsäurenitril, 1-Hydroxybenzotriazol usw. abgeleiteten Ester in Betracht.

Schließlich ist es auch möglich, die Verbindungen der Formel I dadurch zu erhalten, daß man eine Verbindung der Formel IV



worin  $R_1$  bis  $R_3$  sowie X und Z die gleiche Bedeutung wie oben haben und W eine Hydroxy- oder eine Acyloxygruppe, einen p-Nitrophenoxy-, Tri- oder Pentachlorphenoxy-, Pentafluorphenoxy-, Pyridyloxy-, Phenylmercapto-, p-Nitrophenylmercapto- oder Cyanomethyloxyrest oder den Rest des N-Hydroxysuccinimids bedeutet,

mit Ammoniak oder einer unter den Reaktionsbedingungen Ammoniak liefernden Substanz, wie z. B. Ammoniumcarbonat, umgesetzt. Auch bei dieser Verfahrensweise kann in der Verbindung der Formel IV vor der Umsetzung die 1-(3)-Stellung des Imidazolylrestes in der weiter oben geschilderten Weise reversibel geschützt werden.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen zeichnen sich durch eine beträchtliche Stabilität aus, sie können daher z. B. durch Umfällen, Umkristallisation, aber auch durch Säulenchromatographie, Gegenstromverteilung usw. gereinigt werden.

Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung näher. All Temperaturangaben sind darin unkorrigiert. Bei der Ausarbeitung dieser Beispiele wurde auf die Erzielung optimaler Ausbeuten kein Wert gelegt.

Beispiel 1

L-2-oxo-imidazolidin-4-carbonyl-L-histidyl-L-prolinamid.

- a) 79,2 g N-Benzylloxycarbonyl-L-2-oxo-imidazolidin-4-carbonsäure (hergestellt nach T. Shiba et al. Bull.Chem.Soc. Japan, 41 2748-53 (1968)) und 38,1 g N-Hydroxysuccinimid werden in 200 ml Dimethylformamid gelöst. Man kühlt auf 0° ab, gibt eine Lösung von 61,8 g N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid in 100 ml Dimethylformamid zu, rührt 1 Stunde bei dieser Temperatur und läßt dann unter weiterem Rühren für 12 Stunden langsam auf Raumtemperatur kommen. Dann wird der ausgefallene Dicyclohexylharnstoff abfiltriert; das Filtrat unter vermindertem Druck auf ein geringes Volumen eingeengt und mit 600 ml heißem Isopropanol versetzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur werden die gebildeten Kristalle (Schmelzpunkt des Rohproduktes 178 - 181°C) abgesaugt und ohne weitere Reinigung für den nächsten Verfahrensschritt eingesetzt.
- b) 40,5 g L-Histidin und 21,9 g Natriumhydrogencarbonat werden in 1 l Wasser gelöst und bei Raumtemperatur mit einer Lösung von 94,2 g des bei a) erhaltenen Rohproduktes in 1 l Dioxan vereinigt. Nach 24-stündigem Rühren bei Raumtemperatur wird die Reaktionslösung unter vermindertem Druck eingeengt. Nach Aufnehmen mit 300 ml Wasser wird der pH-Wert auf 7 eingestellt und das Gemisch bei 0°C aufbewahrt. Dabei fällt das N-Benzylloxycarbonyl-L-2-oxo-imidazolidin-4-carbonyl-L-histidin aus. Es wird abgesaugt und aus 1,7 l siedendem Wasser umkristallisiert. Nach Trocknen über Phosphorpentoxyd beträgt die Ausbeute 66,9 g = 64 % der Theorie. Schmelzpunkt 180 - 182°C;  $[\alpha]_D^{23} = -18,9^\circ$  (c = 1, Dimethylformamid).
- c) 60,2 g des vorstehend bei b) erhaltenen Materials sowie 21,6 g 1-Hydroxy-benzotriazol und 22,5 g L-Prolinamid-

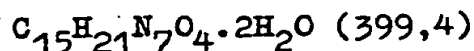
hydrochlorid werden in 200 ml Dimethylformamid suspendiert und nach Kühlen auf  $-10^{\circ}\text{C}$  unter Rühren mit 16,5 ml N-Methylmorpholin versetzt. Man gibt dann die Lösung von 30,9 g Di-Cyclohexylcarbodiimid in 50 ml Dimethylformamid zu und rührt 24 Stunden, wobei man die Temperatur langsam auf Raumtemperatur ansteigen läßt. Der ausgefallene Niederschlag wird abgesaugt, und das Filtrat unter vermindertem Druck eingengt. Der Rückstand wird in 100 ml Wasser gegeben und 12 Stunden bei  $0^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt. Man filtriert und befreit anschließend das Filtrat unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel. Der Rückstand wird in 750 ml Unterphase des Verteilungssystems n-Butanol/Wasser gelöst. Jeweils 100 ml dieser Lösung werden der Gegenstromverteilung im System n-Butanol/Wasser über 160 Stufen unterworfen. Die vereinigten Fraktionen, die das Hauptprodukt enthalten, werden unter vermindertem Druck eingedampft. Eine weitere Reinigung kann durch Chromatographie über Kieselgel 60 (0,2 - 0,5 mm) erfolgen. Dazu werden z. B. jeweils 3,5 g des Produktes in Wasser gelöst und auf eine Säule von 180 g Kieselgel aufgetragen. Bei der anschließenden Elution mit Wasser erfolgt zuerst Abtrennen der Verunreinigung, deren Vollständigkeit durch Messen des Ultraviolettabsorptionsspektrums des Eluats bei 254nm ( $= 2,54 \text{ cm}^{-5}$ ) ermittelt wird. Anschließend wird das Hauptprodukt mit einem Gemisch aus Wasser/Dioxan (2:1) eluiert. Die gesammelten Fraktionen, die das Reinprodukt enthalten, ergeben nach Abdampfen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und Trocknen des Rückstandes über Phosphor-pentoxyd 19,9 g (27 % der Theorie) N-Benzylloxycarbonyl-L-2-oxo-imidazolidin-4-carbonyl-L-histidyl-L-prolinamid  
Schmelzpunkt  $169 - 173^{\circ}\text{C}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -87,7^{\circ}$  ( $c = 0,36$ , Methanol)

Bei dem Vorgehen nach Beispiel 1c) kann man anstelle des N-Methylmorpholins auch 20,9 ml Triäthylamin einsetzen, im übrigen aber wie beschrieben vorgehen.

Das nach der Gegenstromverteilung erhaltene Material kann auch durch Säulenchromatographie über basisches Aluminium-

oxyd unter Verwendung von Methanol/Chloroform (3:1) als Lösungs- und Elutionsmittel gereinigt werden.

- d) 19,9 g des im Beispiel 1c) erhaltenen Produktes werden in 200 ml eines Gemisches aus gleichen Teilen Wasser und Tetrahydrofuran gelöst und in Gegenwart von Palladiummohr, bereitet aus 4 g Palladium-2-chlorid, für 5 Stunden mit Wasserstoff behandelt. Nach Beendigung der Hydrogenolyse wird der Katalysator abgetrennt, das Filtrat mit Aktivkohle behandelt und die Lösung anschließend unter vermindertem Druck vom Tetrahydrofuran befreit. Die verbleibende wässrige Lösung wird gefriergetrocknet. Man erhält 12,8 g = 89 % der Theorie L-2-Oxo-imidazolidin-4-carbonyl-L-histidyl-L-prolinamiddihydrat vom Schmelzpunkt 172 - 173°C ;  $[\alpha]_D^{23} = -52,4^\circ$  (c = 1, Methanol).

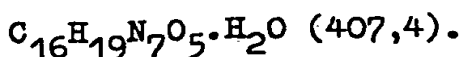


	C	H	N
Berechnet	45,10	6,32	24,55
Gefunden:	45,73	6,44	24,76

### Beispiel 2

15,6 g Orotsäure, 14,4 g 1-Hydroxybenzotriazol und aus 38,5 g N-Benzylloxycarbonyl-L-histidyl-L-prolinamid (K. Inouye et al. Bull. Chem. Soc. Japan, 44, 1689-91 (1971)) durch Abspalten der Benzylloxycarbonylgruppe mittels einer 40 %igen Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig hergestelltes L-Histidyl-L-prolinamiddihydrobromid werden in 200 ml Dimethylformamid gegeben. Man kühlt auf -5°C ab und gibt unter Rühren 27,8 ml Triäthylamin und kurz darauf bei der gleichen Temperatur die Lösung von 20,6 g N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid in 50 ml Dimethylformamid zu. Man rührt 24 Stunden und läßt dabei die Temperatur auf Raumtemperatur ansteigen. Der gebildete Niederschlag wird nach dieser Zeit abgesaugt und das Filtrat unter vermindertem Druck eingedampft. Der Rückstand wird in 200 ml Wasser gegeben und 12 Stunden bei 0°C aufbewahrt. Nach Filtrieren wird das Filtrat bei Raumtemperatur für 10 Minuten mit 170 g eines Kationenaustauschers in der

freien Säureform, wie z. B. dem Produkt der Dow Chemical Co. "Dowex-50 WX 4 (200 bis 400 mesh)", gerührt und dann wird filtriert. Der mit dem Produkt beladene Kationenaustauscher wird 6 mal mit je 700 ml Wasser, 3 mal mit je 200 ml Methanol und 3 mal mit je 700 ml Wasser gewaschen. Anschließend wird 5 Minuten mit 170 ml 1n Ammoniak gerührt und filtriert und das Harz noch 4 mal mit je 90 ml 1n Ammoniak gewaschen. Das Filtrat wird unter vermindertem Druck bei Temperaturen bis 35°C auf ein Volumen von ca. 100 ml eingedampft. Die dabei erhaltene konzentrierte Lösung wird mit Aktivkohle behandelt und dann gefriergetrocknet. Durch 2maliges Aufkochen mit je 250 ml absolutem Äthanol erfolgt bereits weitgehende Reinigung. Zur endgültigen Reinigung kann man beispielsweise eine Säulenchromatographie heranziehen. Dazu werden beispielsweise je 2 - 3 g des Materials in 5 ml Wasser gelöst, mit 10 ml Methanol versetzt und über eine Säule von 200 g basischem Aluminiumoxyd geschickt. Die Elution erfolgt mit Methanol/Wasser (2:1) und wird durch Ultraviolettabsorption bei 254nm ( $= 2,54 \text{ cm}^{-5}$ ) verfolgt. Die Verunreinigungen werden zusammen mit etwas Hauptprodukt zuerst eluiert, danach erfolgt Elution des reinen Produktes. Die vereinigten, das Hauptprodukt enthaltenden Fraktionen werden unter vermindertem Druck eingedampft. Der Rückstand wird in Wasser aufgenommen und gefriergetrocknet. Man erhält so 11,25 g = 28 % der Theorie Orotyl-L-histidyl-L-prolinamidhydrat. Schmelzpunkt 250°C;  $[\alpha]_D^{22} = -45,8^\circ$  (c = 1, Methanol).



	C	H	N
Berechnet:	47,20	5,19	24,12
Gefunden:	47,95	5,27	24,10

Das gleiche Produkt kann man auch durch Umsetzung von L-Histidyl-L-prolinamid mit Orotsäurechlorid (J.med.Chem. 6, 334 - 335 (1963)) erhalten, wobei man zweckmäßig das

Orotsäurechlorid durch Lösen in absolutem Tetrahydrofuran von nicht ins Säurechlorid überführter Orotsäure befreit.

### Beispiel 3

9,7 g L-5-Oxo-thiomorpholin-3-carbonsäure (Tetrahedron, 28 4503 - 13 (1972)) und L-Histidyl-L-prolinamiddihydrobromid hergestellt aus 23,2 g N-Benzylloxycarbonyl-L-histidyl-L-prolinamid durch Abspaltung der Benzylloxycarbonylgruppe mittels einer 40%igen Lösung vom Bromwasserstoff in Eisessig werden in 150 ml Dimethylformamid gegeben. Man kühlt auf  $-10^{\circ}\text{C}$ , gibt unter Rühren 16,7 ml Triäthylamin und kurz darauf bei der gleichen Temperatur eine Lösung von 12,3 g N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid in 50 ml Dimethylformamid zu. Man rührt zunächst 2 Stunden bei  $-5^{\circ}\text{C}$  und dann weitere 22 Stunden, wobei man die Temperatur langsam auf Raumtemperatur ansteigen läßt. Danach wird der Niederschlag abgesaugt, das Filtrat bei vermindertem Druck eingedampft und der so erhaltene Rückstand in 200 ml Wasser gegeben. Nach 2-stündigem Aufbewahren bei Raumtemperatur wird abgesaugt und das Filtrat 10 Minuten mit 100 g eines Kationenaustauschers, wie z. B. des stark sauren, oben bereits erwähnten, Handelsproduktes "Dowex 50 WX 4" gerührt. Das Austauscherharz wird abgesaugt und 4 mal mit je 300 ml Wasser, 3 mal mit 200 ml Methanol und 2 mal mit je 300 ml Wasser gewaschen. Anschließend wird es mit 100 ml 1n Ammoniak bei Raumtemperatur gerührt. Man saugt ab und wäscht mit je 50 ml 1n Ammoniak 4 mal nach. Die vereinigten ammoniakalischen Filtrate werden unter vermindertem Druck bei Temperaturen unter  $35^{\circ}\text{C}$  eingedampft. Der Rückstand wird in 200 ml Unterphase des Systems n-Butanol/Wasser gelöst und je die Hälfte dieser Lösung im System n-Butanol/Wasser der Gegenstromverteilung über 740 Stufen unterworfen. Die das Hauptprodukt enthaltenden Fraktionen werden gesammelt und unter vermindertem Druck eingedampft. Der Rückstand wird in Wasser gelöst, mit Aktivkohle behandelt und gefriergetrocknet. Man erhält 6,9 g = 30 % der Theorie L-5-Oxo-thiomorpholin-3-carbonyl-L-histidyl-L-prolinamid-hydrat.



Schmelzpunkt 155 - 157°C ;  $[\alpha]_D^{23} = -48,5^\circ$  (c = 0,52, Methanol)

Nach den vorstehend beschriebenen, insbesondere den aus den Beispielen ersichtlichen Vorgehensweisen kann man u. a. auch folgende Verbindungen der allgemeinen Formel I erhalten. (Soweit dabei keine Konfigurationsangaben gemacht werden, können in diesen Verbindungen alle drei Ausgangskomponenten, d. h. das Prolinamid, das Histidin sowie die Säure der Formel II, jeweils als Racemat, in der L- oder D-Form vorliegen, jedoch wird in allen Fällen die L-Konfiguration bevorzugt).

Orotyl-D,L-histidyl-D,L-prolinamid

Orotyl-L-histidyl-D-prolinamid

Orotyl-L-histidyl-D,L-prolinamid

L-2-Oxo-imidazolidin-4-carbonyl-L-histidyl-D,L-prolinamid

(5-Methyl-orotyl)-histidyl-prolinamid

(5-Äthyl-orotyl)-histidyl-prolinamid

(5-n-Propyl-orotyl)-histidyl-prolinamid

(5-iso-Propyl-orotyl)-histidyl-prolinamid

2-Oxo-5,5-dimethyl-imidazolidin-4-carbonyl-histidyl-prolinamid

2-Oxo-4,5-dimethyl-imidazolidin-4-carbonyl-histidyl-prolinamid

2-Oxo-5-äthyl-imidazolidin-4-carbonyl-histidyl-prolinamid

2-Oxo-5-methyl-5-äthyl-imidazolidin-4-carbonyl-histidyl-prolinamid

2-Oxo-imidazol-4-carbonyl-histidyl-prolinamid

5-Oxo-2,2-dimethyl-thiomorpholin-3-carbonyl-histidyl-prolinamid

5-Oxo-6-methyl-thiomorpholin-3-carbonyl-histidyl-prolinamid

5-Oxo-2,2,6-trimethyl-thiomorpholin-3-carbonyl-histidyl-prolinamid

5-Oxo-2,3,6-trimethyl-thiomorpholin-3-carbonyl-histidyl-prolinamid

5-Oxo-6,6-dimethyl-thiomorpholin-3-carbonyl-histidyl-prolinamid

5-Oxo-morpholin-3-carbonyl-histidyl-prolinamid

5-Oxo-6-methyl-morpholin-3-carbonyl-histidyl-prolinamid

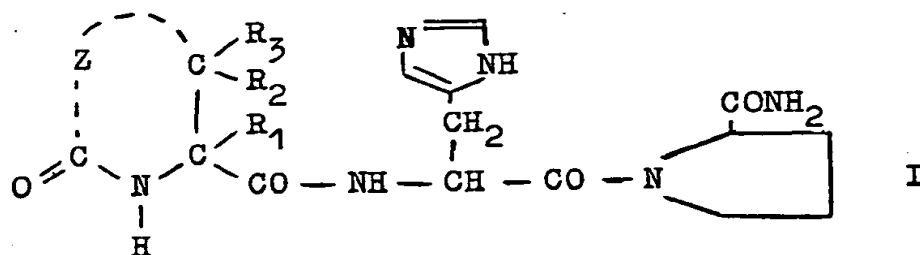
5-Oxo-2,6-dimethyl-morpholin-3-carbonyl-histidyl-prolinamid.

Patentansprüche

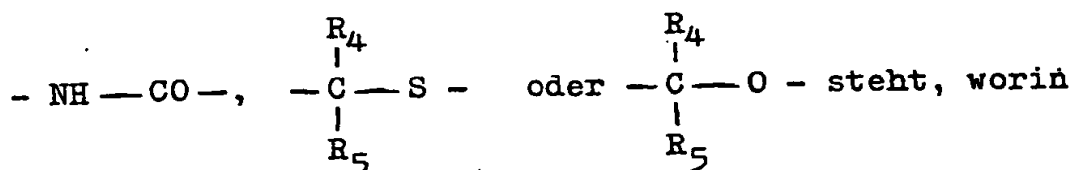
---

Patentanspruch

## 1) Dipeptidderivate der allgemeinen Formel



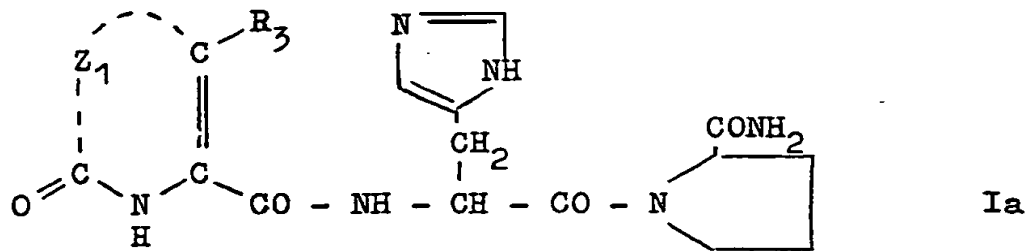
worin  $R_1$  und  $R_2$  gleich oder verschieden sind und für Wasserstoffatome, Alkylreste mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen oder zusammengekommen für eine zusätzliche Bindung zwischen den beiden diese Reste tragenden Kohlenstoffatomen stehen,  $R_3$  ein Wasserstoffatom oder einen Alkylrest mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen bedeutet, Z für eine NH-Gruppe oder eine Gruppe der Formeln



$R_4$  und  $R_5$  gleich oder verschieden sind und Wasserstoff oder Alkylreste mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen bedeuten

und Salze dieser Verbindungen mit pharmazeutisch anwendbaren Säuren.

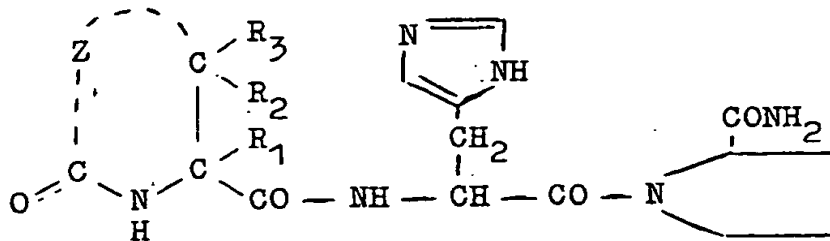
## 2) Dipeptidderivate der allgemeinen Formel



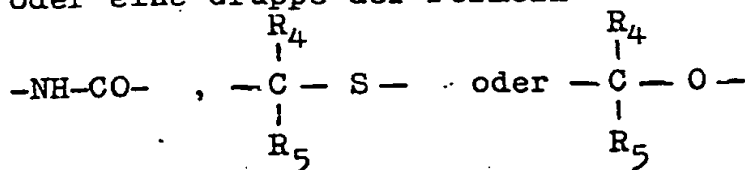
worin  $R_3$  die gleiche Bedeutung wie in Formel I hat und  $Z_1$  für eine NH-Gruppe oder eine -NH-CO-Gruppe steht

und Salze dieser Verbindungen mit pharmazeutisch anwendbaren Säuren.

- 3) Orotyl-histidyl-prolinamid und dessen Salze mit pharmazeutisch anwendbaren Säuren.
- 4) 2-Oxo-imidazolidin-4-carbonyl-histidyl-prolinamid und dessen Salze mit pharmazeutisch anwendbaren Säuren.
- 5) 5-Oxo-thiomorpholin-3-carbonyl-histidyl-prolinamid und dessen Salze mit pharmazeutisch anwendbaren Säuren.
- 6) Orotyl-L-histidyl-L-prolinamid
- 7) L-2-Oxo-imidazolidin-4-carbonyl-L-histidyl-L-prolinamid
- 8) L-5-Oxo-thiomorpholin-3-carbonyl-L-histidyl-L-prolinamid.
- 9) Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel I



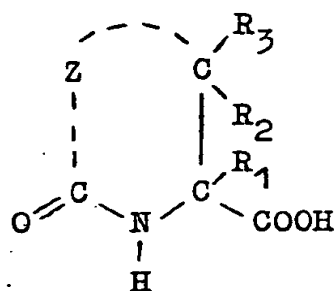
worin  $R_1$  und  $R_2$  gleich oder verschieden sind und für Wasserstoffatome, Alkylreste mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen oder zusammengekommen für eine zusätzliche Bindung zwischen den beiden diese Reste tragenden Kohlenstoffatomen stehen,  $R_3$  ein Wasserstoffatom oder einen Alkylrest mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen bedeutet, Z für eine NH-Gruppe oder eine Gruppe der Formeln



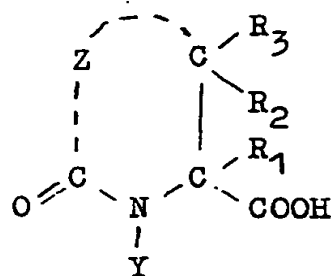
steht, worin  $R_4$  und  $R_5$  gleich oder verschieden sind und Wasserstoff oder Alkylreste mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen bedeuten

und Salzen dieser Verbindungen mit pharmazeutisch anwendbaren Säuren, dadurch gekennzeichnet, daß man

- a) Histidylprolinamid, mit gegebenenfalls reversibel geschützter 1-(3)-Stellung der Imidazolgruppe im Histidylrest, oder ein durch Umsetzung mit einem von einem Trialkylsilanol oder Dialkylsilandiol (mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen in jedem der Alkylreste) abgeleiteten Silylierungsmittel in an sich bekannter Weise erhaltenes silyliertes Histidylprolinamidderivat mit einer Carbonsäure der Formeln



II bzw.

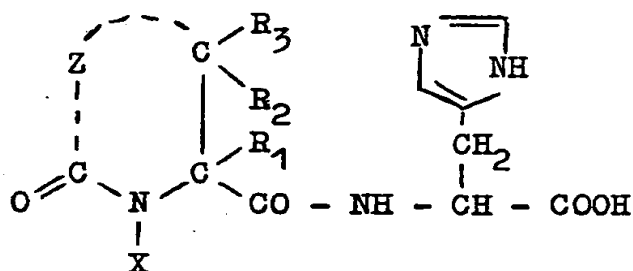


IIa

worin  $R_1$  bis  $R_3$  und Z die gleiche Bedeutung wie oben haben und Y eine hydrogenolytisch abspaltbare Gruppe darstellt,

in Gegenwart eines wasserbindenden Mittels oder mit einem funktionellen Derivat einer Säure der Formel II bzw. IIa umgesetzt und gegebenenfalls anschließend die Gruppe Y, die Schutzgruppe von der Imidazolgruppe im Histidylrest oder gegebenenfalls vorhandene Silylgruppen in an sich bekannter Weise abtrennt, oder

b) Prolinamid mit einer Verbindung der Formel

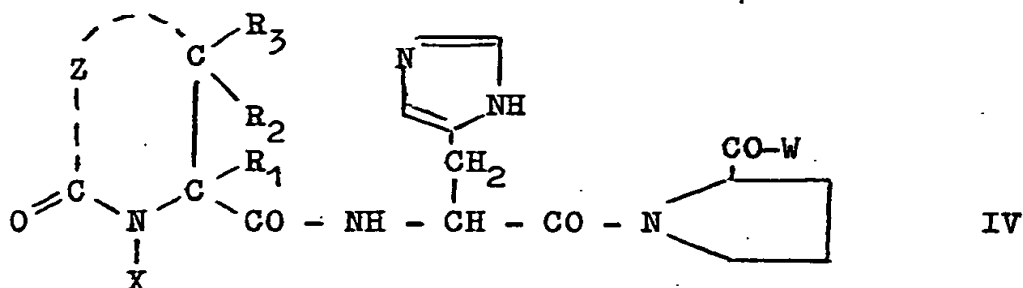


III

worin  $R_1$  bis  $R_3$  und Z die gleiche Bedeutung wie oben haben und X für ein Wasserstoffatom oder für die oben definierte Gruppe Y steht,

mit gegebenenfalls reversibel geschützter 1-(3)-Stellung der Imidazolgruppe in Gegenwart eines wasserbindenden Mittels, oder mit einem funktionellen Derivat einer Verbindung der Formel III umgesetzt und anschließend gegebenenfalls vorhandene Schutzgruppen abtrennt oder

c) eine Verbindung der Formel

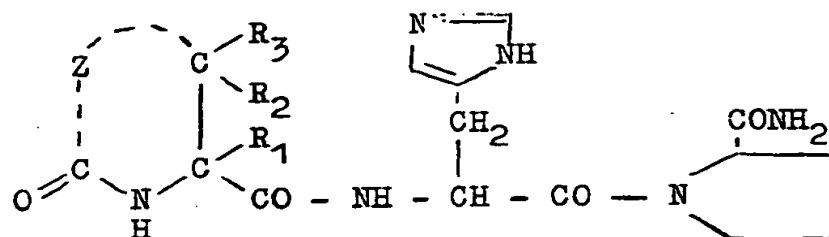


worin  $R_1$  bis  $R_3$  sowie X und Z die gleiche Bedeutung wie oben haben und W eine Hydroxy- oder eine Acyloxygruppe, einen p-Nitrophenoxy-, Tri- oder Pentachlorphenoxy-, Pentafluorphenoxy-, Pyridyloxy-, Phenylmercapto-, p-Nitrophenylmercapto- oder Cyanomethylrest oder den Rest des N-Hydroxysuccinimids bedeutet,

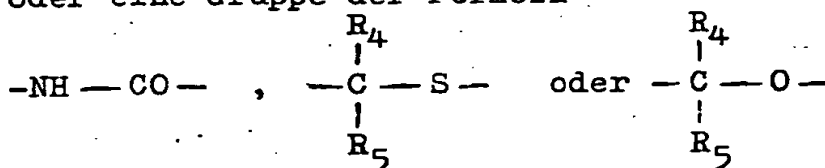
mit gegebenenfalls reversibel geschützter 1-(3)-Stellung der Imidazolgruppe mit Ammoniak oder einer unter den Reaktionsbedingungen Ammoniak liefernden Substanz umgesetzt und anschließend gegebenenfalls vorhandene Schutzgruppen abtrennt

und gegebenenfalls die erhaltenen Verbindungen der Formel I in an sich bekannter Weise in Salze mit pharmazeutisch anwendbaren Säuren überführt.

- 10) Verfahren zur Herstellung von Orotylhistidylprolinamid, dadurch gekennzeichnet, daß man Histidylprolinamid in Gegenwart eines Wasserbindenden Mittels, insbesondere eines Carbodiimides, mit Orotsäure umsetzt,
- 11) Pharmazeutische Zubereitungsformen, gekennzeichnet durch einen Gehalt an einer Verbindung der Formel



worin  $R_1$  und  $R_2$  gleich oder verschieden sind und für Wasserstoffatome, Alkylreste mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen oder zusammengekommen für eine zusätzliche Bindung zwischen den beiden diese Reste tragenden Kohlenstoffatomen stehen,  $R_3$  ein Wasserstoffatom oder einen Alkylrest mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen bedeutet, Z für eine NH-Gruppe oder eine Gruppe der Formeln



steht, worin  $R_4$  und  $R_5$  gleich oder verschieden sind und Wasserstoff oder Alkylreste mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen bedeuten

oder eines Salzes einer solchen Verbindung mit einer pharmazeutisch anwendbaren Säure.



- 12) Pharmazeutische, oral oder parenteral anwendbare Zubereitungsformen gekennzeichnet durch einen Gehalt an Orotyl-L-histidyl-L-prolinamid.

**This Page Blank (uspto)**